

花椰菜自交不亲和系组培快繁技术研究

许端祥, 方淑桂, 陈文辉

(福建省福州市蔬菜科学研究所 350012)

摘 要: 为了解决花椰菜自交不亲和系自身繁殖问题, 以花椰菜自交不亲和系 160 的腋芽为材料研究其组培快繁技术, 结果表明: 适合腋芽增殖的培养基是 MS + 2 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L NAA, 增殖系数为 7.01, 组培苗继代 1 次即不开花; 适合其生根、壮苗的培养基是 MS 培养基, 平均每株生根数是 14.2 条, 平均根长 6.74 cm。试管苗移栽成活率高达 95%。组培苗经过试种, 与大田实生母株相比性状一致, 说明以腋芽组培快繁技术保存、扩繁花椰菜自交不亲和系是可行的。

关键词: 花椰菜; 自交不亲和系; 组织培养; 快繁技术

花椰菜是一种重要的蔬菜作物, 具有明显的杂种优势, 是杂种优势利用最广的蔬菜之一。生产上花椰菜普遍采用人工授粉杂交制种, 该法不仅费工时, 而且成本高。为降低制种成本, 一般利用其杂种优势来获得优良的自交不亲和系或雄性不育系。但花椰菜自交不亲和系自身繁殖困难, 要通过蕾期自交才能获得种子, 且多代自交容易退化, 严重影响了杂种优势的推广应用。组培快繁技术具有保持亲代特性且繁殖快、子代量多的特点。目前, 关于花椰菜的组培技术的报道较多^[1-7], 但一般是取材于花球、花托、花茎、小孢子、原生质体等, 这些外植体形成的愈伤组织再生频率偏低。Hussey^[8]认为, 新芽属多细胞起源, 遗传稳定性相对较大, 因此以组培技术来快速繁殖植物, 最好的途径是以腋芽为外植体进行增殖。为此, 本试验通过以开花的花椰菜自交不亲和系 160 为材料, 取其腋芽进行花椰菜组培快繁技术研究, 以期在花椰菜自交不亲和系的快速繁育和种性保持寻求新的有效途径。

1 材料与方法

1.1 试验材料 本所花椰菜课题组提供的花椰菜自交不亲和系 160 (属中晚熟类型), 于 7 月中旬播种, 8 月中旬定植, 11 月上旬抽苔开花。

1.2 试验方法

1.2.1 腋芽外植体的获取 于花椰菜自交不亲和

系 160 开花时, 用锋利刀片在主茎处将腋芽切下, 先置于 1% 的洗衣粉溶液中浸泡片刻, 再用流水冲洗 30 min, 转入 75% 的乙醇溶液中振荡灭菌 30 s, 无菌水荡洗 1 次, 然后转入 10% 的次氯酸钠溶液中振荡灭菌 20 min, 无菌水荡洗 3~5 次, 最后在无菌滤纸上吸去表面水分, 并将腋芽切成 0.5 cm 小块备用。

1.2.2 腋芽增殖培养基的筛选和继代 腋芽增殖培养基设 6 种配方: A. MS + 3 mg/L 6-BA + 0.01 mg/L NAA; B. MS + 3 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L NAA; C. MS + 2 mg/L 6-BA + 0.01 mg/L NAA; D. MS + 2 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L NAA; E. MS + 3 mg/L 6-BA; F. MS + 2 mg/L 6-BA。各培养基均附加 30 g/L 蔗糖、7 g/L 琼脂、pH5.8。

将小腋芽分别接种于 6 种培养基中, 每种培养基接 25 瓶, 每瓶接 4 个腋芽, 重复 3 次。然后放入 (25 ± 2) °C、光照强度 3 000 lx, 16 h/d 光照的培养室中培养, 20 d 后分别统计增殖数量, 进行 *t* 测验分析, 并将增殖的腋芽转入相应的增殖培养基中继代培养。

1.2.3 试管苗的生根、壮苗培养 生根培养基设 5 种配方: H. MS; J. 1/2MS; K. MS + 0.1 mg/L IBA; L. B5 + 0.1 mg/L IBA; M. MS + 20 mg/L B9。各培养基均附加 30 g/L 蔗糖、7 g/L 琼脂、pH5.8。

将增殖的试管苗转入 5 种生根培养基中培养。

收稿日期: 2006-02-28

作者简介: 许端祥, 男, 1974 年生, 助理研究员。

基金项目: 福州市科学技术局项目 (2004-42)。

每种培养基接 10 瓶, 每瓶接 3 株, 重复 3 次, 于接种培养 7 d 后调查试管苗的生根率, 14 d 后再调查试管苗的生根率、株高、生根数及根长, 并对结果进行 t 测验分析。

1.2.4 试管苗炼苗、移栽、定植 生根的试管苗长到 2~3 cm 高、有 5~6 片叶子、根系发达时, 进行炼苗。从瓶中小心取出试管苗, 洗净根部附着的培养基, 栽种于营养钵的基质(蛭石、草炭、草木灰以 1:1:1 混合)中, 用白色塑料膜罩住保湿 5~7 d, 在温室中继续培养 15~20 d, 然后移出室外炼苗 7 d, 选择晴天傍晚种植于大田(注意防晒保湿)。

2 结果与分析

2.1 腋芽增殖培养基的筛选和继代 试验发现, 在 A、B、C、D、E、F 6 种培养基中, 腋芽都有不同程度的增殖, 且增殖的腋芽生长良好。从试验结果(表 1)看, 培养基 D 增殖系数最高, 达到 7.01; 其次培

表 1 不同培养基配方对花椰菜腋芽增殖的影响

培养基	增殖后的芽数 (个)	繁殖系数
A	515	5.15E
B	697	6.97A
C	655	6.55C
D	701	7.01A
E	690	6.90B
F	580	5.80D

注: 各培养基接种芽数均为 100 个。

培养基 B, 增殖系数为 6.97, 与 D 差异并不显著, 而培养基 A、C、E、F 增殖系数与培养基 D、B 的差异达到极显著水平, 说明培养基 D 最适合花椰菜腋芽增殖。试验还发现, 腋芽培养物继代一次的再生植株, 已经不会开花。

2.2 试管苗的生根、壮苗培养

脱分化后的试管苗转入生根培养基中, 7 d 后大部分试管苗均长出了新根(表 2), 其中培养基 K 最好, 生根率达 39.17%, 与其他 4 种培养基的差异达到极显著水平; 其次为培养基 L。生根培养 14 d 后, H、J、K、L、M 5 种培养基的生根率都可以达到 100%, 彼此并无差别(表 2)。但从试管苗的株高来看, 培养基 L 的最高, 为 7.69 cm; 培养基 J 的最低, 为 3.00 cm, 相差 4.69 cm。5 种培养基的株高差异达到极显著水平。试验发现, 培养基 M 的生根率、平均根长与不添加任何激素的培养基 H、J 的相比没有优势, 而株高却比 H、J 的高, 且差异达到极显著水平, 说明植物生长延缓剂 B9 对花椰菜试管苗生根、壮苗不起作用。

从试管苗生根情况来看, 以培养基 K、L 为好, 同比生根快, 根长长, 生根数较多, 但培养基 K、L 的试管苗株高过高, 都在 7 cm 以上, 有点徒长, 壮苗效果不是很好。而培养基 H 的试管苗株高 4.49 cm 较适宜, 生根数 14.2 条最高, 根长仅次于培养基 K、L。说明培养基 H 是花椰菜试管苗适合生根壮苗的最适培养基。

表 2 不同培养基配方对花椰菜试管苗生根、株高的影响

培养基	生根率(%)		株高 (cm)	叶片数 (片)	生根数 (条)	根长 (cm)
	7 d	14 d				
H	26.30C	100A	4.49D	14.3B	14.2A	6.74C
J	15.00D	100A	3.00E	10.8E	10.8C	4.21E
K	39.17A	100A	7.24B	13.6C	12.4B	8.66B
L	32.99B	100A	7.69A	12.1D	10.0D	9.46A
M	15.37D	100A	4.91C	15.0A	11.0C	4.30D

注: 株高、叶片数、根长均为培养 14 d 后的结果。

2.3 试管苗炼苗、移栽、定植 试验发现, 在炼苗、移栽中, H、J、K、L、M 5 种培养基的试管苗移栽成活率差别并不大(主要跟移栽时的温度、湿度有关, 管理得好成活率都可以达到 95% 以上), 矮壮的试管苗相对缓苗更快。经过试种的试管苗与

大田实生母株相比, 无论从植株性状, 还是从育性表现来看都完全一致, 说明组培再生苗能很好地保持原品种的特性(表 3), 用其配制的杂种后代与以实生母株配制的基本上没有区别。

表 3 花椰菜组培苗与实生母株的比较

类 型	植株外叶	叶色	花球	株高 (cm)	株幅 (cm)	亲和系数
组培苗	多、宽大、长	浓绿色	黄白色、松、绿梗	40.1	75.0	<1
实生母株	多、宽大、长	浓绿色	黄白色、松、绿梗	41.0	74.8	<1

3 讨论

试验结果表明,以腋芽为外植体进行花椰菜组织培养以保存、扩繁花椰菜自交不亲和系是可行的。研究表明,花椰菜自交不亲和系的腋芽培养物,在 MS+2 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA 的培养基上,增殖系数可以达到 7.01,一年只要增殖扩繁 9 代,一个腋芽理论上就可以扩繁约 4 035 万株。以 1 hm² 种 1 700 株苗计,可以满足 1 500 hm² 的制种用苗需求,完全可以达到田间应用的要求,为花椰菜自交不亲和系的快速繁育和种性保持找到一条新的有效途径。

参考文献:

- [1] 夏小娣,李素文,张宝珍,等.花椰菜组织培养获得再生植株[J].天津农业科学,1995,1(2):20.
- [2] 张小玲,唐征,张纯青,等.利用花椰菜无菌苗顶芽进行试管繁殖研究[J].浙江农业科学,1995(5):239-241.
- [3] 李敏,祝全华,聂晶,等.六种花椰菜不同器官无性系建立的研究[J].哈尔滨师范大学自然科学学报,2004,6(20):85-69.
- [4] 张小玲,张纯青,唐征,等.花椰菜未受精子房、花托、花序轴离体培养诱导成苗研究[J].长江蔬菜,2000(1):28-30.
- [5] Pareed L K, Chandra N. Somatic embryogenesis in leaf callus from cauliflower [J], Plant Sci Lett. 1987 (11): 311-316.
- [6] Hansen L, N, Earle E D. Regeneration of plants from protoplasts of rapid cycling Brassica oleracea L [J]. Plant Cell Reports, 1994 (13): 335-339.
- [7] Yang Z N, Xu Z H, Wei Z M. Cauliflower inflorescence protoplast culture and plant regeneration, plant Cell [J]. Tissue and Organ culture, 1994 (36): 191-195.
- [8] Hussey G. The application of tissue culture to the vegetative propagation of plants [J]. Sci prog, 1978 (65): 185-208.

(责任编辑:林树文)

● 学会动态 ●

福建省农学会首批认定全省农业系统 75 位退休农业科技工作者高级技术职称资格

福建省农学会于 8 月 26 日至 27 日两天在福州市召开首次全省农业系统离退休农业科技工作者高级技术职称资格认定工作会议,经过两天紧张的工作,评审认定 75 位退休农业科技工作者具备高级技术职称资格。

经福建省农学会系统的宣传发动,此次全省农业系统共有 89 位退休农业科技工作者向省农学会申报认定高级技术职称资格。其中,申报认定副高资格 50 人、正高资格 39 人。经以谢华安研究员为主任、郑金贵研究员和刘波研究员为副主任的福建省农学会高级技术职称资格认定委员会评审认定,并报以吴建华会长为组长的省农学会高级技术职称

资格认定领导小组批准,确认张海眼等 75 位退休农业科技工作者具备高级技术职称资格。其中,研究员 12 人、教授级高级农艺师 13 人、教授级高级兽医师 3 人、教授级农经师 2 人;副研究员 2 人、高级农艺师 30 人、高级兽医师 7 人、高级畜牧师 2 人、高级农经师 4 人。这些同志的资格认定时间自 2006 年 8 月 27 日算起,但不与原工作单位工资、福利、待遇等挂钩。

据统计,此次评审,确认副高职称 46 人、正高职称 29 人。申报通过率为 84.3%,其中正高通过率为 74.4%、副高通过率为 92%。

(福建省农学会 卓创光)